

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2002-308777

(43)Date of publication of application : 23.10.2002

(51)Int.Cl.

A61K 31/575

A61K 9/20

A61K 35/84

A61K 47/40

A61P 35/00

A61P 43/00

// A23L 1/30

(21)Application number : 2001-110117

(71)Applicant : FUJIBIO CO LTD
YOKOHAMA KOKUSAI BIO
KENKYUSHO:KK
BHN KK

(22)Date of filing : 09.04.2001

(72)Inventor : OKUDA HIROMICHI
KIMURA YOSHIYUKI
KIKUCHI ERIKO
KAMEI TAKESHI
HASHIMOTO HITOSHI
ISHIHARA TAKEO

(54) COMPOSITION HAVING VASCULARIZATION INHIBITORY EFFECT

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a composition having no toxicity on a body when a component derived from an edible mushroom is administered within a common intake range for a mushroom and exhibiting a vascularization inhibitory effect, which is an antitumor effect having high safety.

SOLUTION: The composition having a vascularization inhibitory effect contains ergosterol and a cyclodextrin.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision
of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2002-308777

(P2002-308777A)

(43) 公開日 平成14年10月23日 (2002.10.23)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テマコード* (参考)
A 6 1 K 31/575		A 6 1 K 31/575	4 B 0 1 8
9/20		9/20	4 C 0 7 6
35/84		35/84	4 C 0 8 6
47/40		47/40	4 C 0 8 8
A 6 1 P 35/00		A 6 1 P 35/00	

審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 8 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2001-110117(P2001-110117)

(22) 出願日 平成13年4月9日 (2001.4.9)

(71) 出願人 599100501

富士バイオ株式会社

静岡県富士市横割5丁目13番11号

(71) 出願人 597112483

株式会社横浜国際バイオ研究所

神奈川県横浜市金沢区福浦一丁目1番地1

横浜金沢ハイテクセンター・テクノコア

(71) 出願人 500081990

ビーエイチエヌ株式会社

東京都千代田区一ツ橋2-6-8 トミービル3

(74) 代理人 100074077

弁理士 久保田 藤郎 (外1名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 血管新生阻害作用を有する組成物

(57) 【要約】

【課題】 食用茸に由来する成分を該茸の通常の摂取の範囲で投与し、生体に対して毒性がなく、安全性の高い抗腫瘍作用である血管新生阻害作用を奏する組成物を提供すること。

【解決手段】 エルゴステロールとサイクロデキストリンを含有することを特徴とする血管新生阻害作用を有する組成物。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 エルゴステロールとサイクロデキストリンを含有することを特徴とする血管新生阻害作用を有する組成物。

【請求項2】 エルゴステロールが椎茸、ヒラタケ、ナメコ、マイタケ、エノキタケ、ブナシメジ、ハタケシメジ、アガリクス茸、メシマコブ茸、マンネン茸（靈芝）、松茸、カワラ茸およびチヨレイマイ茸よりなる群から選ばれた少なくとも1種の茸に由来するものである請求項1記載の組成物。

【請求項3】 茸が水またはメタノール、エタノール、プロパノール、アセトン、クロロホルムおよびこれらの混合物の中から選ばれた有機溶媒によって抽出されたものである請求項1または2記載の組成物。

【請求項4】 サイクロデキストリンが β -サイクロデキストリン、マルトシル- β -サイクロデキストリンまたはこれらを含む混合物である請求項1～4のいずれかに記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、血管新生阻害作用を有する組成物に関し、詳しくは担子菌類などに含まれるエルゴステロールの新たに解明した生理機能の有効利用に関する。より詳細にはエルゴステロールとサイクロデキストリンを含有することを特徴とする血管新生阻害作用を有する組成物に関する。この組成物は、血管新生阻害作用を有する医薬や健康食品等として利用されるものである。

【0002】

【従来の技術】血管新生は、ヒトまたは動物の胚発生、女性性周期による排卵または胎盤形成等の通常の生理状態、あるいは創傷治癒、炎症等の修復過程のような健全な状態で起こる一方で、毛細血管が急激に増加、増大して組織に重篤な損傷をもたらす多くの病的状態等でも起こることが知られている。

【0003】血管新生が病因あるいは病態の悪化に関与している疾患として悪性腫瘍、糖尿病性網膜症、リウマチ等が知られている。このうち悪性腫瘍と血管新生の関係については広く研究がなされており、特に悪性腫瘍の転移および予後に血管新生が重要であることが解明されてきた。近年、血管新生阻害活性を示す物質がいくつか報告されており、例えば硫酸化多糖、サメ軟骨、血小板因子-4（PF-4）、ベントサンポリサルフェート、TNF- α （糸状菌産生物ファブリゲンのアナログ）、組織メタロプロテインゼインヒター（TIMP）、ミノサイクリン、デメチルゼイラストラール等が知られている。しかし、これらの血管新生阻害作用は十分なものとは言えず、より優れた血管新生阻害作用を有する物質の開発が切望されている。

【0004】ところで、茸類が各種の生理機能、例えば

免疫増強作用、血圧および血糖低下作用、抗酸化作用などを有することが知られており、茸類そのまま、または抽出物として、生活習慣病に対する薬剤または健康食品として広く使用されている。

【0005】これら茸類の生理活性物質としては次のようなものが知られている。

(1) β -(1 \rightarrow 3)- \rightarrow グルカン、 β -(1 \rightarrow 6)- \rightarrow グルカン蛋白複合体、酸性ヘテログリカン、キシログリカン、ヘテログリカン蛋白複合体、RNA蛋白複合体、糖蛋白（レクチン）が、マクロファージ、補体などの免疫細胞、細網内皮系機能の活性化、インターフェロンなどのサイトカイン誘発促進、Biological response modifiers (BRM) として作用し、免疫能賦活による抗腫瘍効果、延命効果、抗ウイルス作用、血糖降下作用を有する。

(2) セレシステロール誘導体やエルゴステロール酸化誘導体は、HeLe細胞増殖抑制試験の結果から、細胞毒性によるガン細胞増殖阻止効果を有する。

(3) 食物繊維・不消化性の β -グルカン、ヘテロ多糖、キチン質では、発癌物質の吸着排泄などによる癌予防効果を有する。

(4) 食物繊維、脂質を構成しているリノール酸などの不飽和脂肪酸では、血圧降下、コレステロール低下、動脈硬化の改善を有する。

(5) エルゴステロールは光照射によるビタミンD₂作用を有する。

【0006】このように、セレシステロール誘導体やエルゴステロール酸化誘導体などのステロール類に制ガン効果が見出されているが、これは血管新生阻害作用とは別の機構であり、茸（特にエルゴステロール）に血管新生阻害効果は見出されていなかった。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】そのため、茸の生理作用として免疫力を増強する機能並びに食物繊維としての機能以外の、生体に対して毒性がなく、安全性の高い抗腫瘍作用である血管新生阻害作用が、茸の通常の摂取の範囲において奏されることが要望されている。本発明の目的は、このような課題を解決することにある。

【0008】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記の課題を解決すべく、特に茸成分の効率の良い摂取法について長年にわたり研究を続けた結果、水不溶性のエルゴステロールについては、これをサイクロデキストリンに包接させることによって可溶化することができ、これにより、著しい血管新生阻害作用が奏されることを見出し、茸の有機溶媒抽出物にサイクロデキストリンを加えたもの、あるいは茸にサイクロデキストリンを添加してから抽出することによって得たものが、当該作用を効果的に発揮することを確認し、本発明を完成するに至った。

【0009】すなわち、本発明はエルゴステロールとサ

イクロデキストリンを含有することを特徴とする血管新生阻害作用を有する組成物に関する。

【0010】

【発明の実施の形態】以下に、本発明を詳しく説明する。本発明に係るエルゴステロールは、自然界では担子菌類に含まれており、茸はその子実体に対する通称である。本発明に係るエルゴステロールは、椎茸、ヒラタケ、ナメコ、マイタケ、エノキタケ、ブナシメジ、ハタケシメジ、アガリクス茸、メシマコブ茸、マンネン茸（靈芝）、松茸、カワラ茸およびチヨレイマイ茸よりなる群から選ばれた少なくとも1種の茸に由来するものである。したがって、エルゴステロールを含有する茸として本発明に適用することができるものは、例えば椎茸、ヒラタケ、ナメコ、マイタケ、エノキタケ、ブナシメジ、ハタケシメジ、アガリクス茸、メシマコブ茸、マンネン茸（靈芝）、松茸、カワラ茸、チヨレイマイ茸等を挙げることができ、これら茸の中から少なくとも1種を選択して用いる。上記の茸は、いずれも食用茸として大量に市場に流通しているものであり、多くの茸は人工栽培法が確立されている。本発明では天然のものに限らず、市販の人工栽培品も好適に利用することができる。また、人工栽培法が確立されていないアガリクス茸、メシマコブ茸、マンネン茸（靈芝）、松茸、カワラ茸、チヨレイマイ茸等も同様に利用することができる。

【0011】茸の形態などについては特に制限がなく、生の茸またはこれを天日乾燥、熱風乾燥等の常法により乾燥処理を行って得た乾燥物あるいはこれらを有機溶媒等で抽出して得た抽出物などが用いられる。エルゴステロールを含有する茸をサイクロデキストリンと配合することによって、血管新生阻害作用を有する組成物が得られる。この組成物は、医薬や健康食品等として幅広い利用が期待される。

【0012】本発明の組成物の好適な態様では、上記した茸から常法により有機溶媒で抽出して得られるエルゴステロールを含む脂溶性画分を、エルゴステロールとして使用する。例えば、生茸またはその乾燥物あるいはこれらの破砕物に適量の水および／または有機溶媒を添加し、必要に応じて加温し、非還流下もしくは還流下で抽出する。茸の抽出に使用される有機溶媒としては、メタノール、エタノール、プロパノール、アセトン、クロロホルムまたはこれらの混合物を挙げることができる。抽出後、抽出液と固形物を分離し、抽出液から減圧下に抽出溶媒を留去して抽出物を採取すればよい。抽出温度については、水の場合、90℃以上、特に95℃程度が好ましい。有機溶媒の場合は、室温で抽出することができ、必要に応じて適宜加温してもよい。抽出物は、エキス状のものでもよいが、保存性などの観点からは乾燥状態のものが好ましく、さらに必要に応じて粉碎し、粉末化したものが好ましい。

【0013】本発明で使用することができるサイクロデ

キストリン（以下、CDと略記することがある。）としては、グルコースが α -1, 4結合で6~8個環状に連なった α -、 β -、 γ -CDの他に、これらCDの溶解度または物性を改善する目的で、CD環にグルコシル基、マルトシル基などが α -1, 6で結合した分岐CDや、これらのCDもしくは分岐CDのCD環に直接または環の側鎖部分のグルコシル基に β -または α -結合でガラクトシル基、マンノシル基、N-アセチルグルコサミンが結合したガラクトシル-、マンノシル-、N-アセチルグルコサミニル分岐CD、さらには分岐CDの側鎖の末端の糖残基を酸化したグルクロニルグルコシルCDなどが挙げられる。また、これらの混合物も使用できる。

【0014】サイクロデキストリンは、エルゴステロールを可溶化することができるので、本発明の組成物を得る場合、上記の茸を予め抽出処理することなく、例えば市販されている生茸あるいは乾燥物をそのまま用いても良い。その他、茸の乾燥物または抽出物を適当な酵素、例えばアミラーゼ、グルカナーゼなどの糖分解酵素などによって処理したものをを用いることもできる。また、茸を水または熱水で処理して β -グルカン抽出して得た残渣等も使用できる。その他、茸からエルゴステロールを抽出する際にCDを加えて抽出を行い、得られた抽出物を本発明の組成物とすることもできる。

【0015】本発明に係る組成物の調製は、エルゴステロールを含む抽出物または茸とサイクロデキストリンを混合すればよく、その混合比率はエルゴステロールの含量1に対し1~100（モル比）が適当である。好ましくは、エルゴステロールを含む抽出物にサイクロデキストリン溶液を添加し、混練またはホモジナイズした後、既知の方法で乾燥することによって目的とする組成物を得ることができる。また、生茸や茸乾燥物には、サイクロデキストリン溶液を添加し、ホモジナイズしたのち、前記と同様に乾燥したり、またはここにエタノールなどの有機溶剤を加えて回収効率を高め、固体と液層を分離して得た液層を濃縮して抽出エキスとして、またはその乾燥物しても得ることができる。さらには、乾燥茸を煎じる際に、サイクロデキストリンを添加する方法も有効であり、これによりエルゴステロールとサイクロデキストリンを含む組成物を得ることができる。

【0016】本発明に係る組成物は、上記したように様々な態様をしているが、これらを慣用の製剤担体と共に人や動物（家畜、ペット）に投与することができる。投与形態としては、特に限定がなく、必要に応じ適宜選択して使用して錠剤、カプセル剤、顆粒剤、細粒剤、散剤等の経口剤とする他、注射剤、坐剤等の非経口剤が挙げられる。

【0017】経口剤とする場合は、例えばデンプン、乳糖、ショ糖、マンニトール、カルボキシメチルセルロース、コーンスターチ、無機塩類等の賦形剤を用いて常法に従って製造される。また、本発明の組成物の効果を損

なわない範囲で、オリゴ糖、乳酸菌、キチン・キトサン、サメ軟骨、イチョウ葉エキス、DHAなどの成分を単独で、もしくは組み合わせて配合することも可能である。この種の製剤には、適宜前記賦形剤の他に、結合剤、崩壊剤、界面活性剤、滑沢剤、流動性促進剤、矯味剤、着色剤、香料等を使用することができる。これら物質のそれぞれの具体例は以下に示す如くである。

【0018】結合剤：デンプン、デキストリン、アラビアゴム末、ゼラチン、ヒドロキシプロピルスターチ、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシプロピルセルロース、結晶セルロース、エチルセルロース、ポリビニルピロリドン、マクロゴール等。

【0019】崩壊剤：デンプン、ヒドロキシプロピルスターチ、カルボキシメチルセルロースナトリウム、カルボキシメチルセルロースカルシウム、カルボキシメチルセルロース、低置換度ヒドロキシプロピルセルロース等。

【0020】界面活性剤：ラウリル硫酸ナトリウム、大豆レシチン、ショ糖脂肪酸エステル、ポリソルベート80等。

【0021】滑沢剤：タルク、ロウ類、水素添加植物油、ショ糖脂肪酸エステル、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸アルミニウム、ポリエチレングリコール等。

【0022】流動性促進剤：軽質無水ケイ酸、乾燥水酸化アルミニウムゲル、合成ケイ酸アルミニウム、ケイ酸マグネシウム等。

【0023】また、本発明の組成物は、懸濁液、エマルジョン剤、シロップ剤、エリキシル剤等としても用いることができ、これらの各種剤形には、所望によって矯味矯臭剤、着色剤などを含有させてもよい。

【0024】本発明の組成物を医薬や健康食品等として用いて所期の効果を発揮するには、経口で摂取するときの投与量は、人や動物の年齢、体重、使用目的などにより異なり、特に限定されることはない。しかしながら、人の場合、普通成人1日あたり茸抽出物として、10mg～10000mgの範囲、好ましくは50mg～50

00mgを数回に分けて服用することが適当と考えられる。本発明の組成物は、食用茸に由来する成分を主成分としているため、長期間にわたって摂取しても安全性の上で問題がない。

【0025】

【実施例】以下に実施例を示して本発明を詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。実施例1

エルゴステロールのCDによる可溶化

10 各種CD水溶液（2%（v/v）または5%（v/v））100mlあるいは水100mlにエルゴステロールを10mg加え、TKミキサー（特殊機化工業製）を用いて室温にて3000rpm、5分間の条件でホモジナイズした。次いで、0.45μmメンブレンフィルターでろ過し、ろ液にエーテルを40ml加えて包接された、あるいは遊離のエルゴステロールを抽出した。エーテル層を回収し、減圧乾固してアセトニトリル0.5mlに溶解し、HPLCで分析した。エルゴステロール5mgをアセトニトリル20mlに溶解し、さらに10倍希釈したものを標準溶液として、検量線を作成した。サンプルを分析して得られたピークの高さから溶解量を算出した。なお、HPLC分析条件は以下のとおりである。

【0026】

カラム：Asahi-pak ODP-50 6D 6.0×150mm
溶離液：アセトニトリル/メタノール=90/10（v/v）

流速：0.8ml/min

温度：35℃

30 検出：UV 265nm

【0027】結果を表1に示す。表から明らかなように、対照の水でのエルゴステロールの溶解量は0であったが、CD水溶液の場合は、エルゴステロールの溶解量は上昇した。特に、マルトシル-β-CD（表中、G2-β-CD）の溶解量が最も高かった。

【0028】

【表1】表 1

水溶液	CD濃度 (%)	溶解量 ($\mu\text{g}/100\text{ml}$)
水		0.0
α -CD	2	0.4
	5	2.6
β -CD	2	48.2
	5	119.1
γ -CD	2	2.4
	5	3.9
イソエリートP	2	49.4
	5	108.6
G2- β -CD	2	122.8
	5	217.3
HANKS	2	103.8
G2- β -CD	5	151.4

イソエリートP：CD商品名、塩水港精糖（株）製

HANKS：HANKS緩衝液を使用

【0029】実施例2

乾燥アガリクス茸1kgにクロロホルム：メタノール（＝1：1）2Lを加えて還流下、1時間抽出した。この操作を3回繰り返し、クロロホルム：メタノール抽出画分を得た。次いで、この画分を減圧下、溶媒を留去しクロロホルム：メタノール抽出物を250g得た。この抽出物10gに10%マルトシル- β -CD溶液を1L加え、TKミキサーで均一化した後、凍結乾燥してクロロホルム：メタノール抽出物・CD組成物110gを得た。

【0030】クロロホルム：メタノール抽出物200gはアセトン可溶画分（160g）とアセトン不溶画分（40g）に分画した。アセトン可溶画分は、さらにヘキサン不溶画分とヘキサン可溶画分に分画し、ヘキサン不溶画分はシリカゲルクロマトグラフィーに供し、90%酢酸エチル／ヘキサンで溶出した。溶出画分は、減圧下に溶媒を留去し、さらにメタノールから再結晶することによってエルゴステロールを2g得た。このエルゴステロールに10%マルトシル- β -CD溶液を100ml添加し、TKミキサーを用いてホモジナイズした。次に、これを凍結乾燥してエルゴステロール・CD組成物を12g得た。この組成物200mgに、賦形剤として乳糖140mg、コーンスターチ60mg、崩壊剤として低置換度ヒドロキシプロピルセルロース15mg、および滑沢剤としてリン酸マグネシウム3mgを加えて良く混和した後、打錠した。これにケラチン、カカオ脂で下掛けしてケラチン液に浸し、乾燥してフィルムコーティングを行い、錠剤を作った。

【0031】実施例3

乾燥アガリクス茸1kgに2Lの精製水を加え、2時間

加熱還流しながら熱水抽出した。抽出後、遠心分離を行って抽出残渣を回収し、この残渣を50%エタノールおよび5%マルトシル- β -CD溶液で2時間加熱還流しながら抽出操作を行った。次に、遠心分離を行って不溶物を除去し、抽出液を凍結乾燥し、エタノール：CD抽出組成物300gを得た。また、CDの代わりにデキストリンを加えて同様に操作しエタノール：デキストリン抽出物（対照）を得た。

【0032】実施例4

エノキタケ子実体1kgにマルトシル- β -CD100gと50%エタノール2Lを加えて、2時間加熱還流しながら抽出操作を行って抽出液を得た。この操作をさらに2回繰り返し、抽出液を合一した。次いで、減圧下に溶媒を留去し、得られたエキスを凍結乾燥してエノキタケ抽出物120gを得た。同様に、椎茸、ヒラタケ、ナメコ、マイタケ、ブナシメジ、ハタケシメジ、メシマコブ茸、カワラ茸およびチヨレイマイ茸の抽出物をそれぞれ120g、110g、110g、120g、115g、123g、118g、115g、120g得た。

【0033】実施例5

Passaniti らの方法 (Laboratory Invest., 67巻、519-528(1992)) に従い、Matrigel Matrix によって誘導される血管新生に及ぼすエルゴステロールの影響を調べた。すなわち、以下に示す被験体を5週齢のC57BL/6 雌性マウスの腹部皮下に冷却しながら0.5mlずつ移植し、移植後5日目に Matrigel Matrixを取り出して血管新生の状態を観察した。また、Matrigel Matrix は凍結乾燥し、重量を測定した。さらに、取り出したMatrigel Matrix に純水1mlを加え、ポリトロンでホモジネートしたのち、2000回転で5分間遠心分離後、上清を0.2 μm のフィルターで濾過して「ヘモグロビントス

トワコー」(和光純薬)を用いてヘモグロビン量を測定した。

【0034】通常群: Matrigel Matrix (Becton Dickinson Labware 製)

対照群: Matrigel Matrix, 64units ヘパリン, 1ng/ml 1 酸性繊維芽細胞増殖因子 (以下、FGF と略記することがある。)

エルゴステロール添加群1: エルゴステロール10mg/kg, Matrigel Matrix, 64units ヘパリン, 1ng/ml FGF

エルゴステロール添加群2: エルゴステロール20mg/kg, Matrigel Matrix, 64units ヘパリン, 1ng/ml FGF

なお、エルゴステロールは、2%マルトシル-β-C D (磷酸緩衝液)に懸濁して用いた。また、ヘパリンおよびFGFは1% BSA (牛血清アルブミン)で無菌的に調製した。

【0035】得られた結果を図1、図2に示した。図から明らかなように、対照群は通常群に比較して、顕著に血管新生が促進され、Matrigel Matrix の重量およびヘモグロビン量は増加した。これに対してエルゴステロール投与群では濃度依存的に血管新生が抑制され、Matrigel Matrix の重量およびヘモグロビン量の増加が抑えられた。本試験により、エルゴステロールそのものに血管新生を抑制する作用があることが明らかとなった。

【0036】実施例6

マウスによる腫瘍新生血管抑制作用試験

ドーサル・エア・サック (dosal air sac)法により試験した。すなわち、径14mmのプラスチックリングの両面に、ミリポアフィルターを張り、その中に1.5×10⁶個/mlのLLC (ルイス肺癌細胞)の培養液またはDMEM液 (通常群)を200μl注入してチャンバーを作成した。マウス (C57BL/6 雌5週齢)を1群6匹に分け、マウス背部皮下にこのチャンバーを挿入した。翌日から4群のマウスに対して、5日間、2%β-C D 溶液に懸濁したエルゴステロール (0, 5, 10または20mg/kg)を腹腔内に投与した。エルゴステロール0mg/kg投与群が対照群である。

【0037】6日目にチャンバー上の皮膚を剃毛して新生血管の阻害程度を評価した。一方、残りの1群 (通常群)は、DMEM液を注入したチャンバーを挿入した群であり、この群にはエルゴステロールを含まない2%β-C D溶液のみを投与し、6日目に同様に阻害程度を評価した。腫瘍からの新生血管促進物質がミリポアフィルターを透過すると共にチャンバーに接した面に新生血管が増生して観察される。この新生血管の増生の阻害程度を、以下の評価基準に従って評価した。結果を表2に示す。

+++ : 新生血管の増生が極めて顕著である

++ : 新生血管の増生が顕著である

+ : 新生血管が増生している

± : 新生血管がやや増生している

- : 新生血管の増生が全く認められない

【0038】

【表2】表2

		阻害程度
通常群		-
対照群		+++
エルゴステロール (5mg/kg)		++
エルゴステロール (10mg/kg)		+
エルゴステロール (20mg/kg)		±

【0039】表2から明らかなように、対照群は通常群に比較してLLCの増殖に伴い顕著に血管新生が促進された。これに対してエルゴステロール投与群では濃度依存的に血管新生を抑制した。また、比較のために実施したCDを含まない群では、エルゴステロールの投与量が上記範囲では全く効果は確認されず、5%アラビアゴムで懸濁しても、エルゴステロール投与量が100mg/kg以上でしか効果を確認することができなかった。このことから、エルゴステロールをCDと共に用いることが効果的であることが分かった。

【0040】実施例7

実施例6と同様に1.5×10⁶個/mlのLLC (ルイス肺癌細胞)の培養液またはDMEM液 (通常群)を200μl注入して作成したチャンバーを挿入したマウスに、実施例3において調製したエタノール:CD抽出組成物またはエタノール:デキストリン抽出物 (対照)をそれぞれ20mg/kgを5日間腹腔内に投与し、6日目に阻害程度を評価した。その結果、対照群は著しい血管新生が観察されたが、エタノール:CD抽出組成物投与群では血管新生はほとんど認められなかった。

【0041】実施例8

実施例6と同様に1.5×10⁶個/mlのLLC (ルイス肺癌細胞)の培養液またはDMEM液 (通常群)を200μl注入して作成したチャンバーを挿入したマウスに、実施例2で得たアガリクス茸のクロロホルム:メタノール抽出組成物、実施例4で得たエノキタケ抽出物、椎茸抽出物、ヒラタケ抽出物、ナメコ抽出物、マイタケ抽出物、ブナシメジ抽出物、ハタケシメジ抽出物、メシマコブ茸抽出物、カワラ茸抽出物またはチヨレイマイ茸抽出物をそれぞれ100mg/kgまたは1000mg/kgを7日間経口投与し、8日目に血管新生の程度を観察した。また、茸抽出物を投与しないものを対照として実施例6と同様に観察した。結果を表3に示す。

【0042】

【表3】表3 茸抽出物・CD組成物の血管新生抑制作用

11

12

	投与量	
	100 mg/kg	1000 mg/kg
通常群		—
対照群	+++	—
アガリクス茸クロロホルム：メタノール抽出組成物	+	—
エノキタケ抽出物	++	+
椎茸抽出物	+	±
ヒラタケ抽出物	+	±
ナメコ抽出物	++	+
マイタケ抽出物	++	+
ブナシメジ抽出物	++	+
ハタケシメジ抽出物	++	±
メシマコブ茸抽出物	++	+
カワラ茸抽出物	++	+
チヨレイマイ茸抽出物	++	+

【0043】表3から明らかなように、アガリクス茸のクロロホルム：メタノール抽出組成物では高い血管新生阻害効果が見られた。他の茸抽出物の場合も、その効果が観察された。また、このような経口投与では体重、胸腺、脾臓、副睾丸脂肪組織重量に変化はなく、また白血球の減少等の副作用は認められなかった。

【0044】

【発明の効果】本発明により提供される血管新生阻害作用を有する組成物は、食用茸に由来する成分を主成分としているため、生体に対して毒性がなく、安全性が高い*

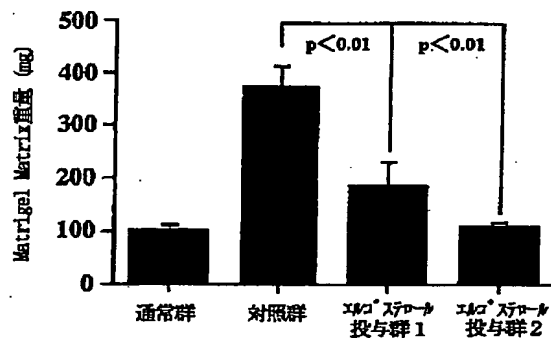
*ものである。そのため、この組成物を通常の摂取の範囲で投与することにより、抗腫瘍作用である血管新生作用の阻害を図ることが可能であり、癌などの生活習慣病の予防と治療に有用な薬剤、健康食品等としての利用が期待される。

20 【図面の簡単な説明】

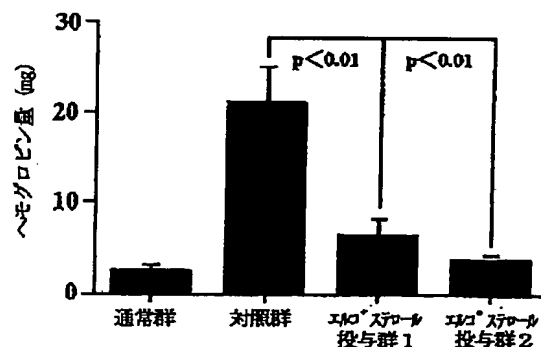
【図1】 実施例5における各群のMatrigel Matrixの重量の測定結果を示す図である。

【図2】 実施例5における各群のヘモグロビン量の測定結果を示す図である。

【図1】



【図2】



フロントページの続き

(51)Int. Cl.⁷

A 61 P 43/00

// A 23 L 1/30

識別記号

105

F I

A 61 P 43/00

A 23 L 1/30

ターマコード (参考)

105

B

Z

(72)発明者 奥田 拓道

愛媛県松山市鷹子町1174-17

(72)発明者 木村 善行

京都府京都市中京区麩屋町通二条上ル布袋屋町520

BEST AVAILABLE COPY

(72)発明者 菊地 恵理子
神奈川県横浜市鶴見区大黒町13-46 株式
会社横浜国際バイオ研究所内
(72)発明者 亀井 武司
静岡県富士市横割5-13-11 富士バイオ
株式会社内
(72)発明者 橋本 仁
神奈川県横浜市鶴見区大黒町13-46 株式
会社横浜国際バイオ研究所内

(72)発明者 石原 健夫
東京都千代田区一ツ橋2-6-8 トミ
ビル ビーエイチエヌ株式会社内
Fターム(参考) 4B018 MD08 MD36 MD82 MD83 MD84
ME14 MF01
4C076 AA36 BB01 CC26 CC27 CC40
DD26C DD67 EE32E EE38
EE39E EE41 EE53 FF04
FF06 FF09 FF15 GG14
4C086 AA01 AA02 DA11 MA02 MA05
NA10 NA11 ZA36 ZB26
4C088 AA07 AC17 BA09 BA10 CA06
CA09 MA02 MA35 MA52 NA02
NA10 NA11 ZA36 ZB26